

# 小鼠下丘神经元声反应的性别差异<sup>\*</sup>

皮建辉<sup>①</sup> 王丹<sup>②</sup> 唐佳<sup>②</sup> 陈其才<sup>②\*\*</sup>

(<sup>①</sup> 湖南怀化学院生物工程系 怀化 418008; <sup>②</sup> 华中师范大学生命科学学院 武汉 430079)

**摘要:** 采用自由声场的纯音短声刺激研究昆明小鼠下丘神经元听反应特征的性别差异。结果表明, ①下丘神经元放电形式雌性以相位型为主, 雄性以持续紧张型为主, 且持续紧张型出现率存在明显的性差 ( $P < 0.05$ ); ②最佳频率分布雌雄都主要集中在 10 ~ 20 kHz, 而潜伏期分布雌性较雄性集中; ③最小阈值分布雌性主要集中于 40 ~ 63 dB SPL, 而雄性无明显的集中区; ④神经元最大发放雌性明显高于雄性 ( $P < 0.01$ ); ⑤脉冲发放函数和潜伏期函数的类型雌雄相同, 但非单调型潜伏期函数出现率雄性明显高于雌性 ( $P < 0.01$ ); ⑥小鼠下丘神经元频率调谐曲线被分成五类, 各类出现率在雌雄间无明显差异, 但宽阈型频率调谐曲线百分率雌性明显高于雄性 ( $P < 0.05$ ), 且雌性频率调谐曲线高频边反转斜率明显高于雄性 ( $P < 0.05$ )。因此提示, 雌雄小鼠下丘神经元声反应特征存在一定的差异。

**关键词:** 声反应特征; 下丘神经元; 昆明小鼠; 性别比较

**中图分类号:** R338, Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)06-38-07

## Sex Difference of Acoustic Response in Inferior Collicular Neurons of Mouse, *Mus musculus* Km

PI Jian-Hui<sup>①</sup> WANG Dan<sup>②</sup> TANG Jia<sup>②</sup> CHEN Qi-Cai<sup>②</sup>

(<sup>①</sup> Department of Biotechnology, Huaihua College, Hunan Huaihua 418008;

<sup>②</sup> School of Life Sciences, Central China Normal University, Wuhan 430079, China)

**Abstract:** Sex difference of acoustic response inferior collicular neurons of mouse (*Mus musculus* Km) was studied with tone burst in free field. The result showed. ① The main discharge pattern of inferior collicular neurons in females was Phasic, while in males was Tonic. The percentage of Tonic was significantly different between females and males ( $P < 0.05$ ). ② Distribution of BF in both males and females was 10 - 20 kHz, but that of Lat in females was more frequent than that in males. ③ Distribution of MT in females mainly concentrated on 40 - 63 dB SPL, but that of in males had not obvious concentration. ④ Maximum spike of inferior collicular neurons in females was significantly higher than that in males ( $P < 0.01$ ). ⑤ The type of spike function and latency function between females and males was the same, but the percentage of non-monotonic function in males was obviously higher than that in females ( $P < 0.01$ ). ⑥ FTC of inferior collicular neurons in mouse were divided into 5 categories. The percentage of FTC among different categories was not different, but the percentage of wide FTC in females was higher than that in males ( $P < 0.05$ ). The results

\* 国家自然科学基金资助(No. 39970251);

\*\* 通讯作者;

第一作者介绍 皮建辉, 男, 36岁, 副教授; 研究方向: 生理学与人类学。

收稿日期: 2004-03-18, 修回日期: 2004-09-27

suggest that there is sex difference in inferior collicular neuron acoustic response in Kunming mice.

**Key words:** Acoustic responses properties; Inferior collicular neurons; Kunming mouse; Sex comparison

中脑下丘(inferior colliculus, IC)是哺乳动物听反射中枢和听信息向中传递的重要中继站,它接受来自中脑以下几乎所有听觉信息的传入。研究发现,下丘神经元听反应特征存在明显的年龄差异<sup>[1-5]</sup>,出生后听反应特征的演化表现为神经元最佳频率(best frequency, BF)范围逐渐向高频延伸、反应阈值(threshold)降低、反应潜伏期(latency, Lat)缩短、神经元的频率调谐曲线(frequency tuning curve, FTC)变窄以及音调筑构逐步形成等,要等到第6周才接近成年动物<sup>[5]</sup>。另有研究报道,有些哺乳动物,如南美栗鼠(Chinchillas)对噪声的反应存在一定的性别差异<sup>[6]</sup>,然而,这些动物下丘神经元对纯音短声的反应是否也存在性别差异?为此,本文探讨了小鼠下丘神经元对纯音短声反应的特征并分析了其性别差异。

## 1 材料与方 法

**1.1 动物手术和电极制备** 本研究所用动物来自湖北省预防医学科学院实验动物中心的清洁级昆明小鼠(Kunming Mouse, *Mus musculus*, Km),体重20~25 g,个体年龄差异不超过7 d,身体健康,听力正常。手术方法参照有关文献<sup>[7]</sup>。术前先用0.6%戊巴比妥钠(nembutal, 40~50 mg/kg b.w.)腹腔注射麻醉,切开动物顶部皮肤,分离肌肉,95%酒精脱顶颅骨表面脂肪,在解剖镜下将一根1.8 cm长的平头钉用超强力胶(acrylic glue)和牙科水泥粘定在头顶颅骨上,以便记录时固定动物,在下丘所在部位的颅骨上制备200~500  $\mu\text{m}$ 的小孔,并用自制小针刺破硬脑膜以便插入电极,2~3 h后开始记录,在记录期间定时补加戊巴比妥钠,并根据情况通过调整戊巴比妥钠剂量使动物维持清醒安静状态。术后动物被安放于无回声屏蔽室中的防震实验台上,动物头部的平头钉被固定在一副自制并可自由调节的支架上,以固定头部,保

持动物头部于正常生活状态。无回声屏蔽室中温度保持在25~30℃。

临实验前,用微电极控制器(Bioscience Co. UK)将单管玻璃电极毛坯(外径1.5 mm,购自中科院上海生理所)拉制成单管电极(尖端直径小于1  $\mu\text{m}$ ,阻抗5~10 M $\Omega$ ),内充填2 mol/L NaCl溶液(pH 7.4)和2%快绿(fast green,便于电极定位)。

**1.2 声刺激和信号记录** 采用自由声场的纯音短声刺激,刺激声参数为时程40 ms,起落时间各2 ms,频率2次/min。声刺激系统由函数信号发生器(GFG-8016G, Good Will Instrument, 中国台湾)、短声发生器(LAT-45, LEADER, 日本)、声强衰减器(LAT-45, LEADER, 日本)、高频功率放大器(实验室自制)和扬声器(AKG model CK50, 1.5 cm diameter, 1.2 g, frequency response 1~100 kHz)组成。扬声器固定于俯仰方位(elevation)的0平面(该平面与动物口眼线保持同一水平)、经向方位(Azimuth)角度为记录电极对侧60°。声刺激系统用国产声级计(HS5660A)校正,声强用dB SPL表示(1 dB SPL相当于20  $\mu\text{Pa}$ )。

电极由微电极推进器(KOPF640, USA)从IC背表面主体部位垂直推入(实际上插入IC)。电极推入IC区域为颅顶人字缝后1.0~1.6 mm和矢状缝经 $\lambda$ 点的后延线外侧0.5~1.5 mm<sup>[8]</sup>,电极记录到的神经元的深度可直从推进器显示屏上读取。神经元反应引导到生物电信号放大器(ISO-DAM, WPI, USA)放大后经IBM兼容PC机采样,32次刺激反应叠加并转换成刺激后时间直方图(post-stimulus-time, PSTH),储存处理,并分别输送至模拟示波器(FLUKE3084, USA)监视和监听器(AM9, GRASS)监听。用纯音短声寻找到神经元后,测定并记录其深度(depth)、最佳频率(best frequency, BF)、最小阈值(minimum threshold, MT)、潜伏期

(latency, Lat)、频率调谐曲线 (frequency tuning curve, FTC)、强度-发放率函数 (rate-intensity function) 和强度-潜伏期函数 (latency-intensity function) 等。

实验数据用 Excel 和 Sigmaplot 软件进行分析和作图。

### 2 结果

本实验共记录到 75 个 IC 神经元, 其中雌性 45 个, 雄性 30 个, 记录深度范围为 230 ~ 2 034  $\mu\text{m}$ , 最佳频率范围为 9.8 ~ 50.8 kHz, 反应最小阈值变化范围为 18.8 ~ 62.7 dB SPL。

**2.1 听反应形式** 神经元的反应形式是通过刺激后的时间直方图 (PSTH) 来确定。如图 1, 为一个神经元的一次反应发放。首先在示波器上观察, 要求每次刺激都有发放, 然后每次刺激产生的发放, 其发放峰均能达到的位置设置一条甄别线, 于是系统便可在发放峰达到甄别线一次就记录到一个小直方图, 若同一位置有多次发放峰达到甄别线, 就会有多个小直方图叠加。由于通常记录到的反应单元是 multi-unit, 神经元的放电不完全在同一位置, 所以记录到的 PSTH 是多个小直方图叠加后的矩形图, 如图 2 所示。

依据 PSTH 的类型, 小鼠 IC 神经元听反应型式记录到 3 种: 相位型 (phasic, P)、相位爆发型 (phasic burster, Pb) 和持续紧张型 (tonic, T), 如图 3。其中雌性 IC 神经元以 P 型为主 (60%), 雄性以 T 型为主 (53.33%)。各型的性别比较见表 1, 显示 T 型的出现率存在明显的性别差异 ( $P < 0.05$ )。

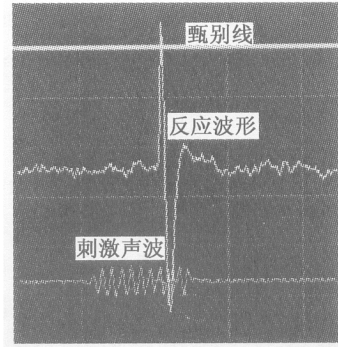


图 1 单个神经元的一次发放

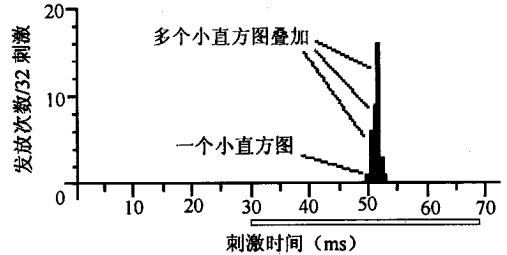


图 2 一个反应单元的 PSTH

图下方的空心矩形表示声刺激

表 1 小鼠 IC 神经元听反应型式的性别比较

放电类型	雌性		雄性		P 值
	个数	百分比	个数	百分比	
P 型	27	60.00	12	40.00	> 0.05
Pb 型	6	13.33	2	6.67	> 0.05
T 型	12	26.67	16	53.33	< 0.05
合计	45	100	30	100	

**2.2 最佳频率** 图 4 为 BF 分布直方图。雌性 IC 神经元 BF 分布范围为 9.8 ~ 50.8 kHz, 且 53.33% 分布在 10 ~ 20 kHz 之间; 而雄性 IC 神经元的 BF 分布范围为 11.2 ~ 50.1 kHz, 且有 53.33% 分布在 10 ~ 20 kHz 之间, 可见小鼠 IC 神经元听反应 BF 分布主要集中在 10 ~ 20 kHz

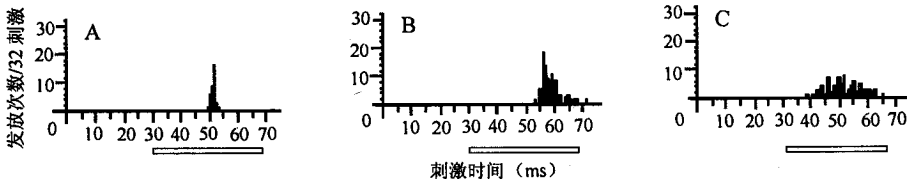


图 3 神经元的听反应形式直方图

A: 相位型; B: 相位爆发型; C: 持续紧张型。A、B、C 神经元的记录深度 ( $\mu\text{m}$ )、最佳频率 (kHz) 和最小阈值 (dB SPL) 分别是 458、16.5、45.3; 774、14.1、61.2; 678、15.3、53.3。图下方的空心矩形表示声刺激

之间。BF 的平均值无明显的性别差异 ( $P > 0.05$ )。

**2.3 反应潜伏期** 小鼠 IC 神经元听反应潜伏期较长,变化范围为 7.5 ~ 41 ms,其中雌性平均为  $(17.12 \pm 5.27)$ ms,异动范围为 10.5 ~ 41 ms,雄性平均为  $(20.33 \pm 7.57)$ ms,异动范围为 7.5

~ 38 ms,二者无明显差异 ( $P > 0.05$ )。图 5 为反应潜伏期分布直方图,可见雌性 IC 神经元的反应潜伏期极大部分集中在 10 ~ 20 ms,而雄性的在 10 ~ 30 ms 之间分布均匀,显示了较明显的差异。

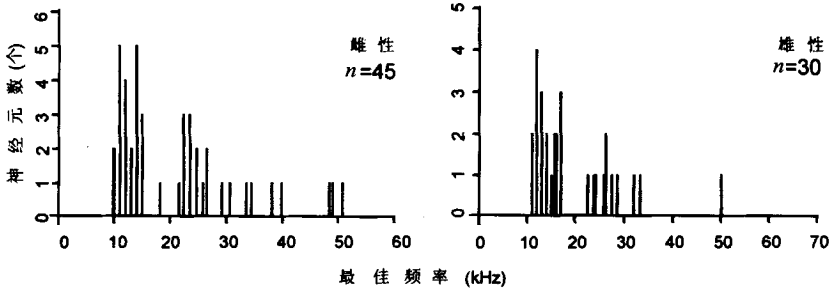


图 4 小鼠 IC 神经元 BF 分布直方图  
*n* 表示神经元总数

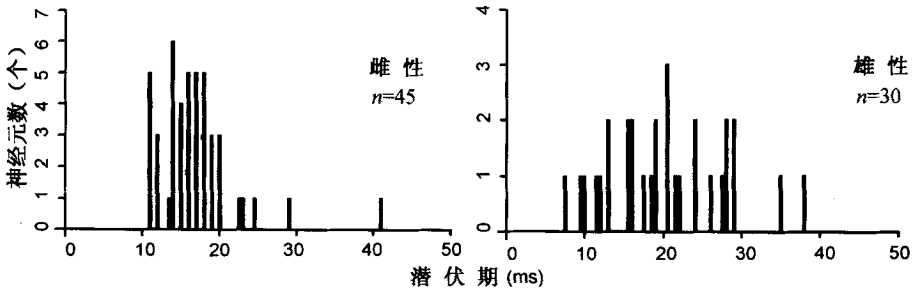


图 5 小鼠 IC 神经元 Lat 分布直方图  
*n* 表示神经元总数

**2.4 最小阈值及最大发放** 听反应最小阈值分布散点图见图 6,可见雌性比较集中于 40 ~ 62.7 dB SPL(66.67%)之间,异动范围为 18.8 ~ 62.7 dB SPL;而雄性分布较散,无明显的集中

区,异动范围为 23.2 ~ 70.1 dB SPL,然而,雌雄 IC 神经元的听反应最小阈值无明显的性别差异 ( $P > 0.05$ )。

雌性 IC 神经元 32 次刺激累计最大发放为

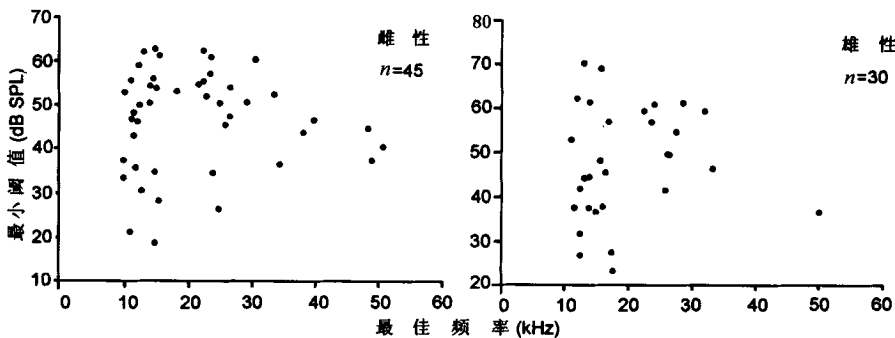


图 6 小鼠 IC 神经元 MT 分布散点图  
*n* 表示神经元总数

29 ~ 198 次, 平均为  $(99.5 \pm 42.60)$  次; 雄性为 12 ~ 194 次, 平均为  $(61.30 \pm 44.85)$  次, 存在极显著的性别差异 ( $P < 0.01$ )。

**2.5 脉冲发放函数及潜伏期函数** 本实验获得的强度-发放率函数类型主要有单调型 (monotonic) 和非单调型 (non-monotonic) 两种 (图

7); 强度-潜伏期函数, 除单调型和非单调型外, 还有单调饱和型 (monotonic saturation) (图 8)。各类型百分比如表 2, 可见, 除非单调型的强度-潜伏期函数百分率存在极显著的性别差异 ( $P < 0.01$ ) 外, 其它各型均无明显的性别差异。

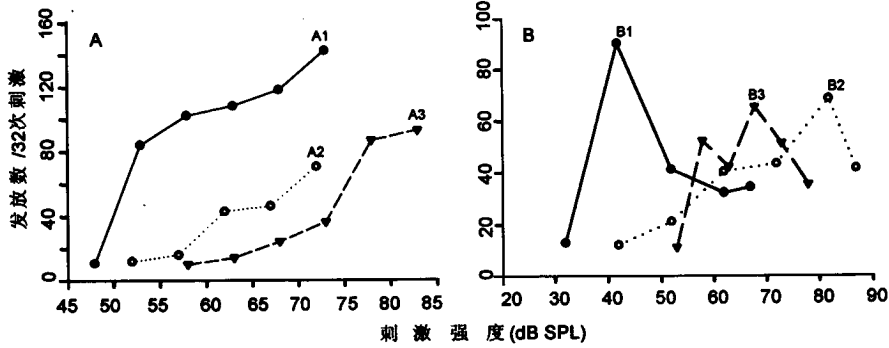


图 7 强度-发放率函数类型

A、B 各记录了 3 个不同神经元的函数, A 示单调型函数 (A1, A2, A3 示三种不同的单调型函数); B 示非单调型函数 (B1, B2, B3 示三种不同的非单调型函数) (下同)

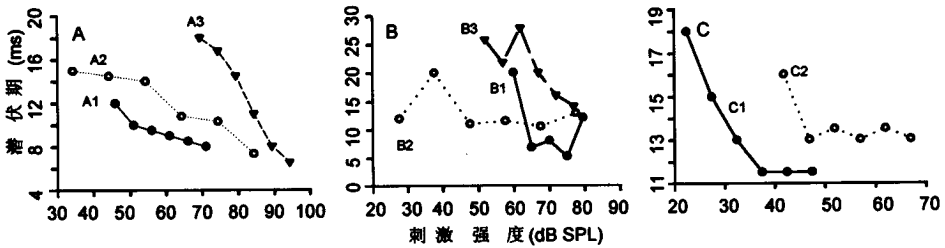


图 8 强度-潜伏期函数类型

A、B 各记录了 3 个不同神经元的函数; C 记录了 2 个不同神经元的函数。

A 示单调型函数; B 示非单调型函数; C 示单调饱和型函数 (C1, C2 示二种不同的单调饱和型函数)

表 2 函数各型的百分率

函数名称	函数类型	雌性		雄性		P 值
		数量	百分率	数量	百分率	
强度-发放率函数	单调型	25	55.56	10	33.33	> 0.05
	非单调型	20	44.44	20	66.67	> 0.05
强度-潜伏期函数	单调型	28	62.22	13	43.33	> 0.05
	非单调型	6	13.33	13	43.33	< 0.01
	单调饱和型	11	24.45	4	13.34	> 0.05

**2.6 频率调谐曲线和  $Q_{10}$  值** 共记录了 59 个 IC 神经元的调谐曲线, 其中雌性 32 个, 雄性 27 个, 根据 FTC 性质将其分为 5 类 (图 9)。A 类: 尖端狭窄, 频宽较小 ( $Q_{10} > 4.0$ ), 且随声强增加其双侧外展程度相同; B 类: 与 A 类相似, 但尖

端较宽, 频宽较小 (大部分  $Q_{10} < 2.0$ ); C 类: 随声强增加高频边或低频边明显外展, 而另一边几乎无变化 (变化率一般在 10% 以内); D 类: 曲线的双侧同时倾向高频边或低频边; E 类: 为多峰曲线。各类型分布情况见表 3。

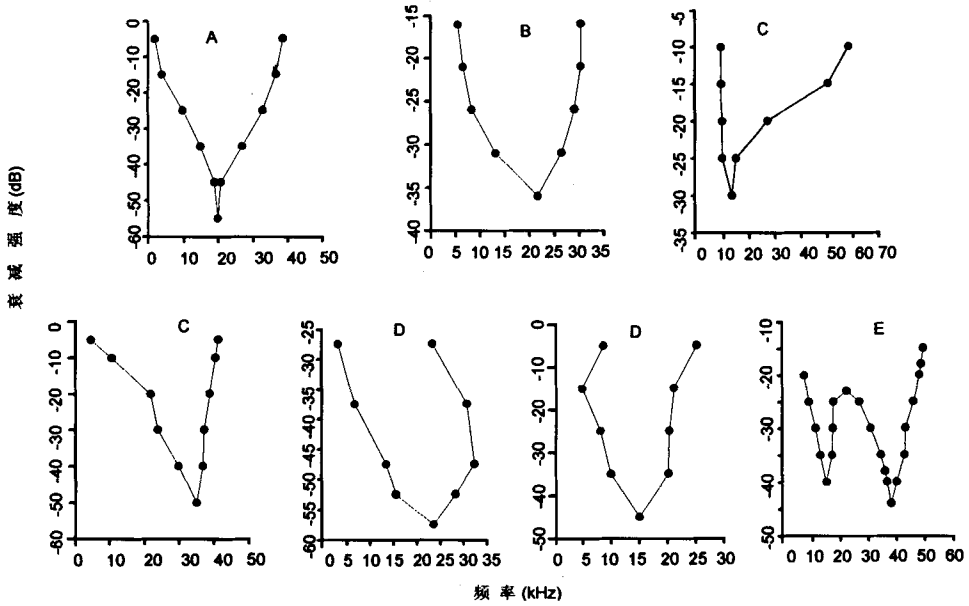


图9 小鼠IC神经元FTC类型

表3 各FTC类型的百分率

曲线类型	雌性		雄性		P
	数量	百分率	数量	百分率	
A	5	15.63	3	11.11	>0.05
B	15	46.88	13	48.15	>0.05
C	10	31.25	8	29.63	>0.05
D	1	3.12	3	11.11	>0.05
E	1	3.12	-	-	
合计	32	100	27	100	

小鼠IC神经元FTC的 $Q_n$ 值平均数无明显性差( $P > 0.05$ ),其中雌性 $Q_{10}$ 值介于0.27~15.43, $Q_{30}$ 值介于0.19~3.72,狭窄型FTC( $Q_{10} > 5.0$ )占总数的15.63%(5/32),宽阔型FTC( $Q_{10} < 2.0$ )占总数的68.75%(22/32);雄性 $Q_{10}$ 值介于0.7~32.2, $Q_{30}$ 值介于0.28~3.48,狭窄型FTC( $Q_{10} > 5.0$ )占总数的22.22%(6/27),宽阔型FTC( $Q_{10} < 2.0$ )占总数的40.74%(11/27)。狭窄型无明显的性差( $P > 0.05$ ),但宽阔型百分率雌性明显高于雄性( $P < 0.05$ )。

FTC的高低频双边的外展程度雌雄均是向高频外展比向低频外展要明显。若用反转斜率(inverse-slope,  $IS = \Delta F_{10-30} / \Delta I_{10-30}$ )<sup>[9]</sup>表示外展

程度,则雌性 $IS_{high}$ 明显高于雄性 $IS_{high}$ ( $P < 0.05$ ),表示雌性高频边外展比雄性更明显,提示雌性对高频的感受更敏感。

### 3 讨论

关于鼠类下丘听反应特征的定量研究过去已有报道<sup>[10]</sup>,但未进行性别间的分析。本研究发现,昆明小鼠下丘神经元听反应存在某些性别差异。

尽管雌雄小鼠下丘神经元的听反应形式类型相同,但各类型的出现率不同,雌性以P型为主,雄性以T型为主,且T型出现率存在明显性差( $P < 0.05$ ),说明雄性小鼠大多数下丘神经元(53.33%)感受一定声强后的反应较雌性更剧烈,而且,T型神经元对其突触后神经元的影响,其作用强度和范围都较大,因而提示雄性下丘作为听觉传导中继站,其声反应较雌性更精确。

反应潜伏期可反映神经元感受声强的敏感性,也反映了神经元在一定条件下的兴奋性。图5显示雌性下丘神经元的潜伏期绝大部分集中于10~20ms之间,说明对声强的感受能力,或一定条件下的兴奋性在整个下丘神经元之间较接近。然而,雄性下丘神经元潜伏期分布反

映出其神经元对声强感受的差异性,或一定条件下的兴奋性在整个下丘中更具多样性。而且,雄性的强度-潜伏期函数中的非单调型函数明显多于雌性( $P < 0.01$ ) (表 3),同样也可说明雄性下丘神经元对声强的感受更具多样性和复杂性,这种现象有利于动物对声信号更精确的分析。

雌雄下丘神经元听反应的平均最小阈值无明显的差异( $P > 0.05$ ),说明下丘神经元的整体兴奋性无明显区别。一般而言,绝大多数听神经元在一定的声刺激强度范围内其发放率随声强的增加而相应增加,表明神经元自身兴奋性随之加大。雌性下丘神经元的最大发放明显大于雄性( $P < 0.01$ ),说明雌性下丘神经元随声强的增加其兴奋性的增加较雄性更明显。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] 孙心德, Jen P H S, 章森福等. 幼小蝙蝠下丘神经元的听反应特性. 兽类学报, 1993, 13(2): 98 ~ 103.
- [ 2 ] 林龙年, 孙心德. 幼年菊头蝠下丘神经元的听反应特征. 华东师范大学学报, 1997, 42(2): 95 ~ 99.
- [ 3 ] 林龙年, 孙心德. 幼年蝙蝠下丘神经元的听空间特征. 生物物理学报, 1996, 12(2): 258 ~ 262.
- [ 4 ] 冯瑞本, 孙心德. N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)及荷包牡丹碱对不同年龄蝙蝠下丘神经元听反应的影响. 生物物理学报, 1998, 14(4): 673 ~ 678.
- [ 5 ] 孙心德, Jen P H S, 张季平等. 菊头蝠出生后下丘神经元听反应特征的演化. 生物物理学报, 1992, 8(4): 683 ~ 690.
- [ 6 ] Mcfadden S L, Henselman L W, Zheng X Y. Sex difference in auditory sensitivity of chinchillas before and after exposure to impulse noise. *Ear Hear*, 1999, 20: 164 ~ 174.
- [ 7 ] Chen Qi-cai, Jen P H S. Pulse repetition rate increases the minimum threshold and latency of auditory neurons. *Brain Res*, 1994, 654: 155 ~ 158.
- [ 8 ] Gunter E, Anne J M Moffat. Inferior colliculus of the house mouse. *J Comp Physiol A*, 1985, 156: 619 ~ 635.
- [ 9 ] Sutter M I. Shapes and level tolerances of frequency tuning curves in primary auditory cortex: quantitative measures and population codes. *J Neurophysiol*, 2000, 84: 1 012 ~ 1 025.
- [ 10 ] Imme Stiebler, Gunter Ehret. Inferior colliculus of House Mouse. I a quantitative study of tonotopic organization, frequency representation, and tone-threshold distribution. *J Comp Neurology*, 1985, 238: 65 ~ 76.